

Abstract of CN1125046

The PG6 microbial preparation mainly is comprised of PG6 microbial flora separated and screened from rhizosphere soil of psammophyte which is composed of three bacteria of PG6-1, PG6-3 and PG6-4, in which PG6-1 and PG6-4 are of bacillus and PG6-3 is of escherichia. ADVANTAGE-. Said PG6 preparation is quick in multiplication, strong in viability and adverse surrounding resistance, and can raise the yield of crops of wheat, barley and maize, etc..

BEST AVAILABLE COPY



[12] 发明专利申请公开说明书

[21]申请号 94105639.2

[51]Int.Cl⁶

A01N 63/00

[43]公开日 1996年6月26日

[22]申请日 94.5.18

[71]申请人 中国科学院新疆生物土壤沙漠研究所
地址 830011新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市北
京南路40号

[72]发明人 关桂兰 杨玉锁 郭沛新 陈理
王卫平 覃楠 孟颂东 郭朝辉

[74]专利代理机构 中国科学院新疆专利事务所
代理人 张莉

权利要求书 3页 说明书 8页 附图页数 0页

[54]发明名称 提高小麦、大麦、玉米等农作物产量的
PG₆微生物制剂

[57]摘要

本发明涉及提高小麦、大麦、玉米等农作物产量的PG₆微生物制剂,其主要是从沙生植物根际土壤中分离筛选出的PG₆菌群,由三种菌PG₆₋₁、PG₆₋₃、PG₆₋₄组成,其中PG₆₋₁、PG₆₋₄属于芽孢杆菌(Bacillus),PG₆₋₃属于埃希氏菌(Escherichia),PG₆制剂繁殖快、生存力强,对逆境有较强的抵抗能力,根据根系、土壤和根际微生物相互作用原理,定向改变根际微生物区系,使其有益根际微生物占优势,改变根际微环境,有利于作物生长发育,提高农作物产量。

权 利 要 求 书

1、一种提高小麦、大麦、玉米等农作物产量的PG₆微生物制剂，其特征在於它是从沙生植物根际土壤中分离筛选出的PG₆菌群，由三种菌PG₆₋₁、PG₆₋₃、PG₆₋₄组成，其中PG₆₋₁、PG₆₋₄属于芽孢杆菌(*Bacillus*)，PG₆₋₃属于埃希氏菌(*Escherichia*)，均在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心保藏(CGMCC)，No. 0209。

2、根据权利要求1所述的提高小麦、大麦、玉米等作物产量的PG₆微生物制剂，其特征在於：芽孢杆菌(*Bacillus*)中的PG₆₋₁的生态特征如下：

PG₆₋₁菌落形态：在BP平板上圆形、带有环纹，表面光滑，边缘整齐，凸起，白色不透明；

PG₆₋₁斜面培养特征：树状，白色稍带黄色，液体培养形成菌膜，培养时间长混浊；

PG₆₋₁个体形态：细胞为直杆状， $0.5-0.7 \times 1.5-2 \mu$ m，芽孢椭圆形，中生，革兰氏阳性，鞭毛周生，运动，原生质染色均匀；

PG₆₋₁菌理化特性：过氧化氢酶反应呈阳性；氧化酶反应呈阴性；精氨酸双水解酶反应呈阴性。V.P反应阳性；V.P培养液生长4天后PH 5.4，甲基红实验阳性；水解酪素；液化明胶，不水解淀粉，不还原硝酸盐；水解蔗糖不形成果聚糖；不产生可溶性色素，在碳源利用方面，可利用甘油、葡萄糖酸盐、蔗糖、甘露醇、阿拉伯糖、葡萄糖、木糖、海藻糖、山梨醇、核糖、柠檬酸盐，不利用酒石酸盐、丙二酸盐、肌醇、鼠李糖。好氧，在PH 7.2—8.5培养基上生长，温度最低4—5℃，在45—50℃生长，耐受最高温度100℃，10分钟。

3、根据权利要求1所述的提高小麦、大麦、玉米等农作物产量的PG₆微生物制剂,其特征在於:芽孢杆菌(*Bacillus*)中的PG₆₋₄的生态特征如下:

PG₆₋₄菌落形态:在BP平板形成大园形菌落,较干燥,边缘不整齐,不透明,无色素;

PG₆₋₄斜面培养特征:凸起,白色略带淡黄,液体培养有菌膜;

PG₆₋₄个体形态:细胞为粗杆状, $1.2-1.4 \times 2-3.5 \mu$, 革兰氏染色阳性,有芽孢,椭圆形,中生。鞭毛周生,运动,细胞质体染色不均匀;

PG₆₋₄菌理化特性:过氧化氢酶反应呈阳性;氧化酶反应呈阳性,V.P反应阴性;V.P培养4天PH 5.4,甲基红实验阳性;水解酪素;液化明胶,不水解淀粉,还原硝酸盐;利用葡萄糖和甘露醇产酸,好氧。在碳源利用方面,可利用甘油、葡萄糖酸盐、蔗糖、葡萄糖、木糖、海藻糖、山梨醇、核糖、柠檬酸盐,不利用酒石酸盐、乳糖。好氧,在PH 7.2—8.5培养基上生长,温度生长范围及耐受范围同PG₆₋₁。

4、根据权利要求1所述的提高小麦、大麦、玉米等农作物产量的PG₆微生物制剂,其特征在於,埃希氏菌属(*Escherichia*) PG₆₋₃的生态特征如下:

PG₆₋₃菌落形态:在BP平板上园形、光滑湿润,边缘整齐,半透明,无色素;

PG₆₋₃斜面培养特征:薄膜状,浅黄褐色,液体培养混浊,后有菌膜;

PG₆₋₃个体形态:细胞为直杆状, $0.5-0.6 \times 1-1.5 \mu$, 革

兰氏染色阴性，无芽孢，鞭毛周生，运动，原生质染色均匀；

PG₆₋₃菌理化特性：过氧化氢酶反应呈阴性；氧化酶反应呈阳性；精氨酸双水解酶反应呈阴性。V.P反应阴性；V.P培养液生长4天PH 4.2，甲基红实验阳性；不水解酪素；不液化明胶，不水解淀粉，能还原硝酸盐，利用葡萄糖、阿拉伯糖、木糖和甘露醇。产酸、产气。兼性好氧。利用蔗糖可形成果聚糖。在碳源利用方面，可利用甘油、葡萄糖酸盐、乳糖、葡萄糖、木糖、甘露醇、阿拉伯糖、鼠李糖、山梨醇。不利用酒石酸盐、丙二酸盐、蔗糖、肌醇、海藻糖、核糖和柠檬酸盐。

5、根据权利要求1所述的提高小麦、大麦、玉米等农作物产量的PG₆微生物制剂，其特征在于，PG₆菌剂制备方法为：

原菌种培养基配方：(以1000毫升为基数)牛肉膏3—8克，蛋白胨3—8克、琼脂粉15—20克，余量为水，调PH7.2—7.5，培养温度25—30℃，进行活化两次，每次36—48小时，进入三角瓶摇床培养或茄子瓶扩繁，时间为24—36小时，然后接种子罐发酵培养，时间为24—36小时；

液体发酵培养基配方：玉米粉2—4%、豆饼粉0.5—2%、氯化钙0.1—0.4%、硫酸铵0.1—0.5%、磷酸氢二钠0.1—0.5%，余量为水，调PH 7.3—7.5，培养温度为28—32℃，时间24—36小时；然后转入大罐培养，时间24—32小时，通气量为1:0.5—0.8，镜检，达到200亿个/毫升，即可放罐。

提高小麦、大麦、玉米等农作物产量的 PG_6 微生物制剂

本发明涉及一种提高小麦等农作物产量的 PG_6 微生物制剂及其制备方法。

根系、根际土壤和根际微生物构成微观生态体系，它们相互依存，相互制约。其中微生物是最活跃部分，也是土壤微生物学工作者重点研究对象。根际微生物对植物作用概括有三种：有益、有害或者无益也无害。除了认识根际微生物对作物、土壤作用及相互关系外，更重要的是应该能动地改变根际微生物区系的组份，使有益微生物占优势，改变根际环境，促进作物生长发育，提高作物产量。

本发明目的在于，研制的提高小麦、大麦、玉米等农作物产量的 PG_6 微生物制剂是从沙生植物根际土壤中分离筛选出的由三种混合菌 PG_{6-1} 、 PG_{6-3} 、 PG_{6-4} 组成，其中 PG_{6-1} 、 PG_{6-4} 属于芽孢杆菌， PG_{6-3} 属于埃希氏菌属。 PG_6 微生物繁殖快，生存力强，对逆境有较强的抵抗能力，根据根系、土壤和根际微生物相互作用原理，定向改变根际微生物区系，使其有益根际微生物占优势，改善根际微环境，促进农作物生长发育，提高作物产量。

本发明的任务是： PG_6 制剂中，每毫升可含有300多亿活菌体，通过拌种，每粒种子可粘有 10^6-10^7 个菌，它们随着种子进入土壤，当种子萌发，开始生长发育时， PG_6 菌群也生长繁殖并聚集于根际，在根际微生物区系中占优势（已用抗菌素标记法证实）。经过大量的试验证明， PG_6 菌中的 PG_{6-1} 产较多的赤霉素，而 PG_{6-4} 产生较多的细胞分裂素； PG_{6-3} 有较强的溶磷作用。

本发明研制的提高小麦、大麦、玉米等农作物产量的 PG_6 微

生物制剂，经鉴定PG₆是由三种菌PG₆₋₁、PG₆₋₃、PG₆₋₄组成，其中PG₆₋₁、PG₆₋₄属于芽孢杆菌(*Bacillus*)，PG₆₋₃属于埃希氏菌(*Escherichia*)，均在北京中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(CGMCC)保藏，No.0209。

本发明研制的提高小麦、大麦、玉米等农作物产量的PG₆微生物制剂，其主要特点：芽孢杆菌(*Bacillus*)中的PG₆₋₁、PG₆₋₄的生态特征如下：

PG₆₋₁菌落形态：在BP平板上园形、带有环纹，表面光滑，边缘整齐，凸起，白色不透明；

PG₆₋₁斜面培养特征：树状，白色稍带黄色，液体培养形成菌膜，培养时间长混浊；

PG₆₋₁个体形态：细胞为直杆状， $0.5-0.7 \times 1.5-2 \mu m$ ，芽孢椭圆形，中生，革兰氏阳性，鞭毛周生，运动，原生质染色均匀；

PG₆₋₁菌理化特性：过氧化氢酶反应呈阳性；氧化酶反应呈阴性；精氨酸双水解酶反应呈阴性。V.P反应阳性；V.P培养液生长4天后PH5.4，甲基红实验阳性；水解酪素；液化明胶，不水解淀粉，不还原硝酸盐；水解蔗糖不形成果聚糖；不产生可溶性色素，在碳源利用方面，可利用甘油、葡萄糖酸盐、蔗糖、甘露醇、阿拉伯糖、葡萄糖、木糖、海藻糖、山梨醇、核糖、柠檬酸盐，不利用酒石酸盐、丙二酸盐、肌醇、鼠李糖。好氧，在PH 7.2—8.5培养基上生长，温度最低4—5℃在15—50℃生长，耐受最高温度100℃，10分钟。

PG₆₋₄菌落形态：在BP平板形成大园形菌落，较干燥，边缘不整齐，不透明，无色素；

PG₆₋₄斜面培养特征: 凸起, 白色略带淡黄, 液体培养有菌膜;

PG₆₋₄个体形态: 细胞为粗杆状, $1.2—1.4 \times 2—3.5 \mu\text{m}$, 革兰氏染色阳性, 有芽孢, 椭圆形, 中生。鞭毛周生, 运动, 细胞质体染然不均匀。

PG₆₋₄菌理化特性: 过氧化氢酶反应呈阳性; 氧化酶反应呈阳性, V.P 反应阴性; V.P 液培养4天PH5.4, 甲基红实验阳性; 水解酪素; 液化明胶, 不水解淀粉, 还原硝酸盐; 利用葡萄糖和甘露醇产酸, 好氧。在碳源利用方面, 可利用甘油、葡萄糖酸盐、蔗糖、葡萄糖、木糖、海藻糖、山梨醇、核糖、柠檬酸盐, 不利用酒石酸盐、乳糖。好氧, 在PH7.2—8.5培养基上生长, 温度生长范围及耐受范围同PG₆₋₁。

埃希氏菌属(*Escherichia*) PG₆₋₃的生态特征如下:

PG₆₋₃菌落形态: 在BP平板上园形、光滑湿润, 边缘整齐, 半透明, 无色素;

PG₆₋₃斜面培养特征: 薄膜状, 浅黄褐色, 液体培养混浊, 后有菌膜;

PG₆₋₃个体形态: 细胞为直杆状, $0.5—0.6 \times 1—1.5 \mu\text{m}$, 革兰氏染色阴性, 无芽孢, 鞭毛周生, 运动, 原生质染色均匀;

PG₆₋₃菌理化特性: 过氧化氢酶反应呈阳性; 接触酶反应呈阳性; 精氨酸双水解酶反应呈阴性。V.P 反应阴性; V.P 培养液生长4天PH 4.2, 甲基红实验阳性; 不水解酪素; 不液化明胶, 不水解淀粉, 能还原硝酸盐, 利用葡萄糖、阿拉伯糖、木糖和甘露醇。产酸、产气。兼性好氧。利用蔗糖可形成果聚糖。在碳源利用方面, 可利用甘油、葡萄糖酸盐、乳糖、葡萄糖、木糖、甘露

醇、阿拉伯糖、鼠李糖、山梨醇。不利用酒石酸盐、丙二酸盐、蔗糖、肌醇、海藻糖、核糖和柠檬酸盐。

在制备方法上

原菌种培养基配方: (以1000毫升为基数) 牛肉膏3—8克, 蛋白胨3—8克、琼脂粉15—20克, 余量为水, 调pH 7.2—7.5, 培养温度25—30℃, 进行活化两次, 每次36—48小时, 进入三角瓶摇床培养或茄子瓶扩繁, 时间为24—36小时, 然后接种子罐发酵培养时间为24—36小时;

液体发酵培养基配方: 玉米粉2—4%、豆饼粉0.5—2%、氯化钙0.1—0.4%、硫酸铵0.1—0.5%、磷酸氢二钠0.1—0.5%, 余量为水, 调pH 7.3—7.5, 培养温度为28—32℃, 时间24—36小时, 然后转入大罐培养, 时间24—32小时, 通气量为1:0.5—0.8, 镜检, 达到200亿个/毫升, 即可放罐分装和包装, 其它操作均按微生物液体发酵要求进行常规灭菌。在后处理中用瓶装或采用轻质碳酸钙吸附, 然后烘干, 粉碎包装。

本发明研制的提高小麦、大麦、玉米等农作物产量的PG₆微生物制剂, 经过大量的试验证明, PG₆液体培养产生赤霉素, 其范围在0.19—0.63ppm, PG₆各菌株单独培养低于混合培养产生的赤霉素量。另外PG₆产生的细胞分裂素0.05—0.48ppm。PG₆₋₃、PG₆₋₄有解磷能力, 液体培养3天后, 为对照124倍和136倍。在土壤含全磷较高的情况下, 活化根际土壤磷一般有效速磷可提高1.5—2倍。做盆栽实验表明, 有效穗数增加67%, 株高增加8.7%, 穗重量增加102%, 根重增加8.9%, 粒增重104%。田间小区小麦接种试验结果增加产量60.5%, 大麦接种田间小区试验增产率是37%。大田接种试验, 小麦增产39.2%。大麦增产17.4%, 玉米田间小区

试验增产25.3%，大田试验增产17.2%，甜菜可增加糖度1.5—2.0%，对西瓜也有增加含糖作用。此外对油菜、棉花、大豆等农作物也有不同程度的增产作用。

使用方法：

拌种：农作物播种前进行拌种，小麦等农作物播种量大的品种，以60—80毫升PG₆制剂拌一亩地的种子量。对玉米等拌种量中等的作物，拌种量40—50毫升，对播种量较小的作物如油菜等，拌种量20—30毫升。

沾根：移栽的农作物和蔬菜可用沾根的方法使菌剂进入根区。

喷施：对于某些经济作物如棉花、瓜类等在其生长期以每亩地100—150毫升菌剂稀释进行喷施。

实施例1：

(1) 首先制备PG₆微生物制剂

原菌种培养：(以容量1000毫升为基数)用牛肉膏3克、蛋白胨5克，琼脂粉18克，余量为水，充分搅拌混均，pH调7.2—7.5，培养温度25℃，进行活化两次，每次为36—48小时，进入三角瓶或茄子瓶扩繁，然后接种子罐发酵培养；时间为24小时，其中液体发酵培养基为玉米粉2%，豆饼粉2%，氯化钙0.4%，硫酸铵0.3%，磷酸氢二钠0.2%，余量为水，充分搅拌混均，调pH7.3—7.5，培养温度28℃，时间24小时，然后转入大罐培养，时间24小时，通气量为1:0.5—0.8，镜检，达到208个亿/毫升，放罐(在操作中均按微生物液体发酵要求进行常规灭菌)。在后处理中采用瓶装或采用轻质碳酸钙吸附、烘干、粉碎包装。

(2) 使用方法：

以6亩冬小麦大田拌种试验，对照4亩为基数，称取每亩20公

斤小麦种子，用P₆菌剂70毫升拌种，拌均匀，立即播种，收获时测其结果，每亩地增加有效穗数68万个，千粒重增加0.11克，每亩地增加125公斤，增产率是39.2%。

实施例2:

(1) 首先制备P₆微生物制剂

原菌种培养: (以容量1000毫升为基数) 用牛肉膏5克、蛋白胨8克，琼脂粉15克，余量为水，充分搅拌混均，PH调7.2—7.5，培养温度25℃，进行活化两次，每次为36—48小时，进入三角瓶或茄子瓶摇床扩繁，然后接种子罐发酵培养；时间为24小时，其中液体发酵培养基为玉米粉3%、豆饼粉0.5%、氯化钙0.25%、硫酸铵0.1%、磷酸氢二钠0.4%，余量为水，充分搅拌混均，调PH7.3—7.5，培养温度30℃，时间36小时，然后转入大罐培养，时间24小时，通气量为1:0.5—0.8，镜检，达到240个亿/毫升，放罐(在操作中均按微生物液体发酵要求进行常规灭菌)。在后处理中采用瓶装或采用轻质碳酸钙吸附、烘干、粉碎包装。

(2) 使用方法:

以20亩大麦大田试验，对照7亩为基数，称取每亩15公斤大麦种子，用P₆菌剂70毫升拌种，拌均匀，立即播种，收获时测其结果，每亩地增加有效穗数28万个，千粒重增加1.51克，每亩地增加53公斤，增产率是17.4%。

实施例3:

(1) 首先制备P₆微生物制剂

原菌种培养: (以容量1000毫升为基数) 用牛肉膏8克、蛋白胨3克，琼脂粉20克，余量为水，充分搅拌混均，PH调7.2—7.5，培养温度30℃，进行活化两次，每次为36—48小时，进入三角瓶

或茄子瓶摇床扩繁，然后接种子罐发酵培养；时间为24小时，其中液体发酵培养基为玉米粉4%、豆饼粉1%、氯化钙0.1%、硫酸铵0.5%、磷酸氢二钠0.4%，余量为水，充分搅拌混均，调pH7.3—7.5，培养温度30℃，时间36小时，然后转入大罐培养，时间24小时，通气量为1:0.5—0.8，镜检，达到282个亿/毫升，放罐（在操作中均按微生物液体发酵要求进行常规灭菌）。在后处理中采用瓶装或采用轻质碳酸钙吸附、烘干、粉碎包装。

(2) 使用方法：

以10亩地玉米大田试验，对照5亩称取每亩80公斤玉米种子，用PC₆菌剂600毫升拌种，拌均匀，立即播种，收获时测其结果，每亩地增产17.2%

本发明研制的提高小麦、大麦、玉米等农作物产量的PC₆微生物制剂大田试验增产效果见附表：（接下页）

PG₆微生物制剂大田试验增产效果表

试验面积及 作物种类	处理	穗数(个) (11/1000亩)	穗重(克) (11/1000亩)	粒重(克) (11/1000亩)	千粒重 (克)	亩产 (千克)	净增重 (千克)	增产率 (%)
6亩 冬小麦	对照	330	443	327	46.39	327	125	39.2
	PG拌种	398	568	452	46.50	452		
	t测验	显著	极显著	极显著				
	对照	342	466	352	45.34	352		
30亩 春小麦	PG拌种	460	718	513	49.36	513	161	45.7
	t测验	显著	极显著	极显著				
	对照	364	326	302	51.84	302		
20亩 大麦	PG拌种	392	392	355	53.35	355	52	17.4
	t测验	显著	极显著	极显著				

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.